

Evaluación de Agua Recreacional utilizando una bacteria compartida entre el hombre y los animales, *Escherichia coli*.

Nosedá Ramon P *

RESUMEN

El Arroyo Azul posee las características típicas de un arroyo de llanura, su transcurrir urbano es utilizado por la población para su recreación. Durante el periodo 1993-2007 fue evaluada su calidad bacteriológica, utilizando la bacteria *Escherichia coli* fecal como indicador de contaminación, su origen entérico es compartido tanto por humanos como para animales. El objetivo fue determinar la calidad bacteriológica de dicha agua y relacionarla con distintas enfermedades de origen entérico que ocurren en hombres y animales de nuestra ciudad. La Argentina no tiene reglamentado indicadores de contaminación fecal para aguas de uso recreacionales, por lo que consideramos prudente definir que una valor superior a 500 NMP de *E.coli* fecal por cada 100 ml, debía ser considerada No Apta para la recreación, criterio aceptado en Uruguay y Brasil para tal fin. Se evaluaron un total de 1007 muestras en forma periódica proveniente de 5 estaciones de muestreos. Se analizaron los antecedentes bibliográficos de otros grupos bacterianos enteropatógenos, presentes en su ecosistema: *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* y *Escherichia coli* enteropatógena, que son habitantes convivientes en intestinos humanos y animales, relacionados a la Salud Pública. Anualmente son denunciados al Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica un promedio de 2350 casos de diarreas humanas. Para cuantificar la *Escherichia coli* fecal en aguas del arroyo, se utilizó la técnica de los tubos múltiples y se relacionó a la tabla de Número Más Probable (NMP), inoculando agua en tres series de tres tubos en diluciones decrecientes en medio de Mac Conkey, incubándose en baño de agua termostatzado a una temperatura de 45°C. El porcentaje de muestras No Aptas resultó ser: 1-Ruta 226: 2%; 2-Balneario: 1%; 3-Parque: 4%; 4-Mitre: 4%;5-Benavides: 86%. Las estaciones de muestreos: N°: 1-2-3-4-mostraron un comportamiento aceptable, ya que su promedio fue de 141 NMP. La estación N° 5 evidenció ser de alto riesgo para la salud, tanto para uso recreacional de primer contacto (natación-baños) como de segundo contacto (pesca –navegación) con 42.000 NMP de promedio. Las evaluaciones semanales son comunicadas a la población a través de la prensa escrita, una manera eficiente de crear conciencia ciudadana con responsabilidad social. Las autoridades competentes deberán considerar este indicador bacteriano de polución *Escherichia coli* fecal cuando deban decidir habilitar o desecher lugares públicos con uso de agua para la recreación. Como también la radicación futura de estructuras destinada a la cría, engorde o venta de animales, cuyos efluentes sin tratar son potenciales elementos de contaminación para las aguas recreativas y su medio ambiente.

*Disertación publica, realizada con motivo de asumir como Académico Correspondiente de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria ,6 de diciembre 2007- Azul, Buenos Aires, Argentina.E-mail:rnoseda@laboratorioazul.com.ar

INTRODUCCION

Louis Pasteur decía con frecuencia: «Reunamos hechos reales y tendremos ideas», esta disertación tiene esa característica, razón más que valedera para presentarla a vuestra consideración. La calidad higiénica del agua recreacional es de mucha importancia para la vida comunitaria, su eficiente control bacteriológico es esencial para complementar el manejo de este recurso vital (3) La bacteria *Escherichia coli* fecal desde su descubrimiento por Escherich en 1886, fue considerado un habitante normal del intestino del hombre y animales sanos. Aunque le asigno ciertas influencias en algunas enfermedades intestinales; concepto que posteriormente fue aceptado, cuando Gorbach (5) demostró la producción de exotoxinas y efecto entero-invasivo para ciertas cepas de *E.coli*. Esta bacteria representa el 94 % de los Coliformes totales, nombre genérico otorgado a un grupo de entero bacterias: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, en las heces normales de hombres y animales. La habitual flora bacteriana entero patógena: *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Escherichia coli* patógena, están presentes en nuestra comunidad como agentes bacterianos endémicos, tanto en humanos como animales siendo un desafío para la salud pública. Los Coliformes fecales, nombre genérico otorgado a la *Escherichia coli* fecal, sobreviven la temperatura de incubación de 45 +/- 1° C, fermentando la lactosa con producción de gas. La Argentina, hasta el momento no ha definido los límites para este indicador de polución de aguas recreacionales (3) Como criterio de interpretación desde que iniciamos este trabajo, se fijó un valor de aceptación para el agua de uso recreacional del arroyo Azul: < 500 N.M.P. de *E.coli* fecal, por cada 100 ml de agua, criterios utilizados en Brasil y Uruguay (16). El objetivo fue evaluar los distintos tramos del transcurrir urbano del Arroyo azul que son utilizados para la recreación, cuantificando este indicador *E.coli* fecal universalmente aceptado para aguas polucionadas por impacto de excretas humanas o animales.

MATERIAL Y METODO

Área geográfica evaluada

En febrero de 1993 se iniciaron los muestreos del Arroyo Azul en 5 estaciones de muestreo: 1- Ruta 226, 2- Balneario Municipal, 3- Parque Municipal, 4- Avenida Mitre, 5- Puente Benavides. Se encuentran distribuidas en una extensión de 13.065 metros con una diferencia de altitud sobre el nivel del mar, entre: 143 a 132 mts.

Ubicación geográfica de las Estaciones de Muestreos

Distancias	Metros	Ubicación	Altitud
Puente Ruta 3 y 226	0	36° 50' 50,66" Sur - 59° 54' 03,92" Oeste	140 Mts.
Puente Balneario	6830	36° 47' 41,19" Sur - 59° 52' 58,81" Oeste	138 Mts.
Compuerta Parque	1953	36° 46' 53,77" Sur - 59° 52' 35,67" Oeste	142 Mts.
Puente Av. Mitre	1736	36° 46' 11,36" Sur - 59° 52' 6,39" Oeste	135 Mts.
Salida Efluentes	2290	36° 45' 12,90" Sur - 59° 51' 21,34" Oeste	132 Mts.
Puente Benavidez	256	36° 45' 9,6" Sur - 59° 51' 11,64" Oeste	132 Mts.
TOTAL DE METROS	13065		

Cuadro N° 1

Bacterias entero-patógenas humanas y animales relacionadas con el ecosistema del Partido de Azul

Con estas referencias bibliográficas local, se pretende demostrar que los grupos bacterianos considerados enteropatógenos se encuentran dentro del ecosistema evaluado siendo los mismos acompañantes natos del indicador *Escherichia coli* fecal evaluado (4-7). Los casos oficiales de diarreas humanas en niños y adultos tomados en el periodo 2000-07, marcan un promedio de 2.350 casos por año, afectados por la enfermedad enterica.

Año	Diarrea Humana
2000	1.227
01	1.318
02	1.847
03	1.626
04	2.324
05	2.615
06	2.113
07	2.492

Cuadro N° 2

Escherichia coli enteropatógena en bovinos

Durante el periodo 2004-06 se aislaron y serotipificaron 23 cepas de *Escherichias coli* entero patógenas provenientes de terneros recién nacidos con síndrome diarreico. Durante el periodo 1977-90 se aislaron y tipificaron 52 ce-

pas de *Escherichia coli* que fueron remitidas al Statum Serum –Dinamarca, Dr.Oskorf F e I. (14).En el año 1992-95, se aislaron y tipificaron 14 cepas que fueron remitidas al: Reference Center the Pensylvania State University, Dr. Wilson R (17). Debemos recordar, que la producción de enterotoxina por parte de las *E coli* entero patógenas depende de factores episómicos (extracromosomal).Existe la inquietante posibilidad de que los «episomas» pasen de una cepa de *E.Coli* patógena a cualquier otra cepa de la misma especie no patógena, lo que ocasionaría el desarrollo de grandes cantidades de *E.coli* productoras de enterotoxinas. Estas *E.coli* poseen todas las posibilidades de intercambiarse también como patógeno humano o animal.

Año	Nº de cepa	Institución
1977/90	52	Statum Serum - Dinamarca
1992/95	14	Pensylvania State Univ
2004/06	23	Laboratorio Azul

Cuadro Nº 3

Salmonellas aisladas de muestras: humanas, animales y alimentos durante 1983-2006

Nuestro laboratorio ha aislado durante este periodo un total de 535 cepas de Salmonellas, discriminada de la siguiente manera: humanos con diarrea 221, animales con síndrome diarreico 155 y alimentos para consumo humano 159, todas fueron identificadas en sus distintas serotipos por el Instituto Nacional de Microbiología Carlos A Malbran (8-9).La distribución cosmopolita de esta bacteria con sus 1.800 serotipos diferentes permite evaluar los brotes humanos o animal y relacionarlos epidemiológicamente. Existe y se aisló en reiteradas oportunidades una serogrupo denominado *Salmonella dublin* que ataca exclusivamente a los bovinos, es considerado un serotipo adaptado al hospedador. Este grupo bacteriano refleja un círculo vicioso en la industria procesadora de alimentos, sobre todo a las que se dedican a la producción de derivados de los distintos tipos de carnes, huevos y productos lácteos. Nuestro eco-sistema demuestra una importante presencia de ella y debiera ser un indicador de monitoreo para la Salud Pública Municipal.

Año	Nº de cepa	Humanas	Animales	Alimentos
1983/87	41	13	28	-
1988/2001	287	133	73	81
2002/06	207	75	54	78
Total	535	221	155	159

Instituto Nacional de Microbiología Carlos Malbrán

Cuadro Nº 4

Aislamientos de Shigellas

Este género bacteriano es un entero patógeno que ataca exclusivamente a los humanos, produciendo brotes severos de enterocolitis transmitido por la vía fecal-oral, los serotipos encontrados en nuestra comunidad fueron: *S. sonnei*, *S. flexneri*. Durante los años 1988-2006, nuestro laboratorio realizó 55 aislamientos y tipificaciones de *Shigellas*, en dicho periodo. Durante el 2002 la ciudad de Azul padeció uno de los brotes más importantes de Shigelosis por *S. sonnei*, nuestro laboratorio realizó 43 aislamientos, 14 adultos y 29 niños. En un trabajo compartido con el Hospital de Niños local y el Instituto Nacional de Microbiología Carlos G. Malbrán durante el 2002(15), se arribó a la siguiente conclusión:»... Habiendo realizado la tipificación mediante electroforesis de campo pulsados, se observó que todas las cepas aisladas *S. sonnei* pertenecían a un único clon, los resultados de laboratorio y la investigación epidemiológica permiten trazar el mapa de los clones circulantes y establecer la presencia de brote. Este género bacteriano convive y comparte el hábitat intestinal con las *E. coli* fecal, utilizada como indicador.

Año	Nº de cepa	Serotipo
1988/2006	55	Flexneri - Sonnei
2002	43	Sonnei

Instituto Nacional de Microbiología Carlos Malbrán

Cuadro Nº 5

Aislamiento de *Yersinia pseudo tuberculosis*

Las bacterias de este género se transmiten al hombre u otros animales por ingesta de agua o alimentos. Se impone la diferenciación con otros enteropatógenos bacterianos por su capacidad de causar enterocolitis y adenitis mesentérica en seres humanos y animales, los aislamientos comunicados en la Pcia de Bs.As pertenecen a Azul, Juárez y Trenque Lauque. Plantean un desafío para el diagnóstico y la epidemiología de esta zoonosis (10-12-13).

Año	Nº de cepa	Institución
1987/90	2	Instituto Pasteur - Francia

Cuadro Nº 6

Técnica de muestreo y procedimiento bacteriológico

.Las agua procedente de las 5 estaciones de muestreos se extrajeron en frascos de vidrio neutro estéril de 300 ml de volumen. Una cuerda descartable de nylon, atada a su cuello facilita el lanzamiento a una distancia de entre 2 a 3m

De la costa para su recolección. Se transportó hasta el laboratorio en cajas térmicas, con refrigerantes, a una temperatura entre 5° C y 8° C. Procesándose dentro de las cuatro horas de llegadas al mismo. Se realizaron diluciones al décimo con agua estéril del propio arroyo y se sembraron en tubos múltiples con 10cc, 1cc. y 0,1cc. en caldo de MacConkey lo que permite realizar por la técnica de fermentación de 9 tubos múltiples, su posterior lectura en tablas de NMP (Número Más Probable) y relacionarlo a 100 ml de agua. Sus medias aritméticas, son logaritmizadas para una mejor representación gráfica de los mismos (gráfico: N°1-2-3-4-5-6). Esta batería de tubos múltiples se incuban a 44.5°C., en baño termostático durante 24 hs, junto a un tubo control sembrado con cepa de referencia *E.coli* ATCC 25923. Los tubos que viran del púrpura al amarillo con producción de gas son considerados positivos, procediendo a su aislamiento por estriado múltiple en placa de Petri conteniendo medio EMB agar, las que se incuban en estufa termostática durante 24 hs a 37°C. Las colonias iridiscentes azul brillo metálico (fermentadoras de lactosa) características de las *E.coli* fecal, son aisladas en tubos pico flauta con medios de Triptena de Soya Agar para su posterior identificación en el sistema de enterobacterias «API 20 E» asistido por el programa informático «APILAB Plus».

RESULTADOS

La evaluación se realizó durante 1993-2006 procesándose 1.007 muestras de aguas recreacionales de la zona urbana del Arroyo Azul correspondientes a 5 estaciones de muestreo: 1-Puente ruta 3 y 226 / 2-Compuerta Balneario/ 3-Compuerta del parque/4-Mitre y Costanera./ 5 Puente Benavidez (Foto N°1), que se extienden en un recorrido de 13.065 metros. Con una diferencia de altitud referida al mar de 140 metros al inicio a 132 metros al finalizar su recorrido, las que fueron monitoreadas en distintos periodos de los años.

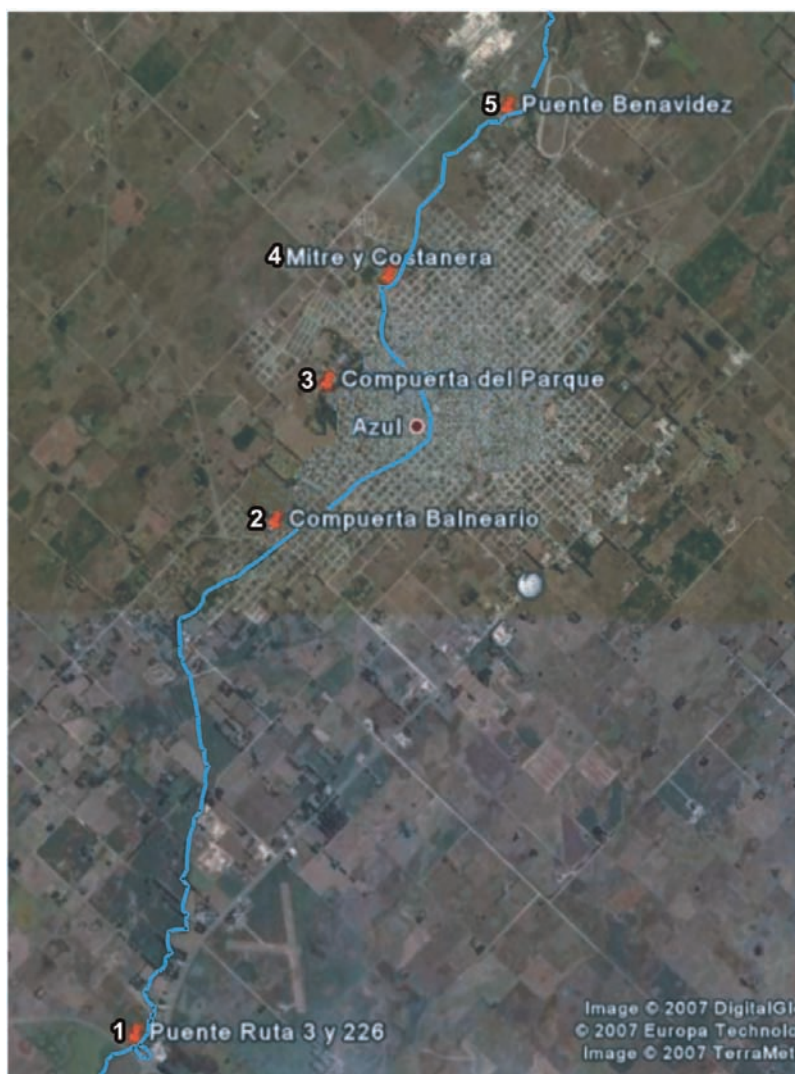
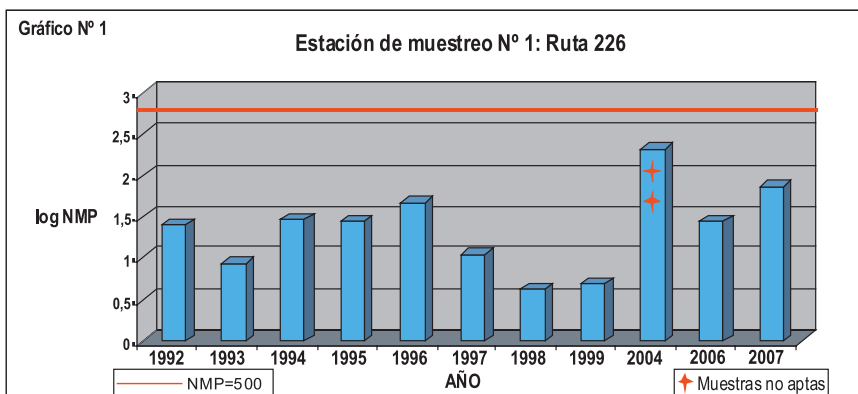


Foto N° 1

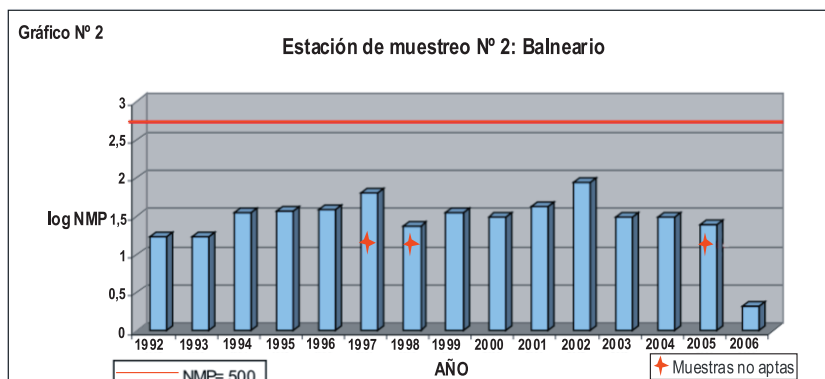
1-Puente ruta 3 y 226 –Es considerado el ingreso a zona peri-urbana de este curso de agua, encontrándose a 140 m de altitud, se lo evaluó en 82 oportunidades y 2 de ellas resultaron NO APTAS (2%). El promedio fue de 153 NMP (Log.2) de *E.coli* fecal por cada 100 ml de agua (Grafico 6). Puntos críticos para tener en cuenta: Paradores y Estaciones de Servicios para automóviles, camiones, colectivos y sus pasajeros-Lavaderos de camiones-Concentraciones de animales bovinos a corral, todos sin instalaciones sanitarias adecuadas para el tratamiento de sus efluentes.

Nº Muestra: 82
 Nº No aptas: 2
 % No aptas: 2
 Promedio N.M.P.: 153



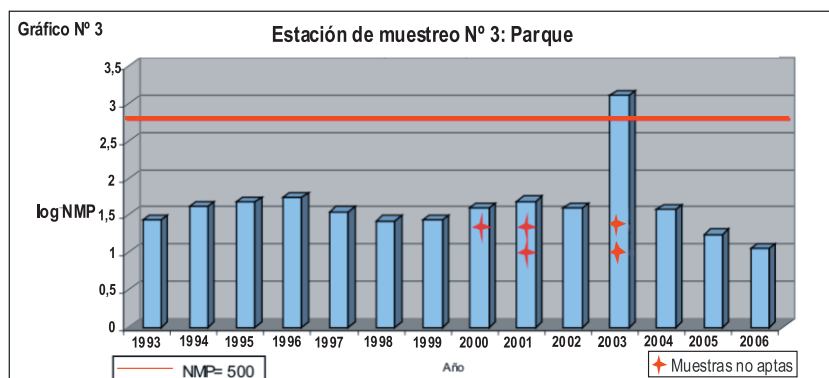
2-Balneario Municipal –Tiene características de embalse artificial, con su correspondiente compuerta, cuyo espejo de agua tiene una extensión de 700 mts de largo por 250 mts de ancho y una profundidad promedio de 1,20 m., se encuentra a una altitud de 138 m, siendo utilizado durante la temporada estival por miles de personas. Se procesaron 258 muestras y 3 (1%) resultaron NO APTAS. Este punto demostró tener un promedio de 65 NMP (Log.1.6) de *E.coli* fecal por cada 100 ml de agua (Gráfico Nº 6). Puntos críticos para tener en cuenta: Drenajes pluviales rurales y peri-urbanos-Instituciones deportivas, sociales y privadas cercanas a su rivera con deficientes instalaciones sanitarias para el tratamiento de sus efluentes.

Nº Muestra: 258
 Nº No aptas: 3
 % No aptas: 1
 Promedio N.M.P.: 65



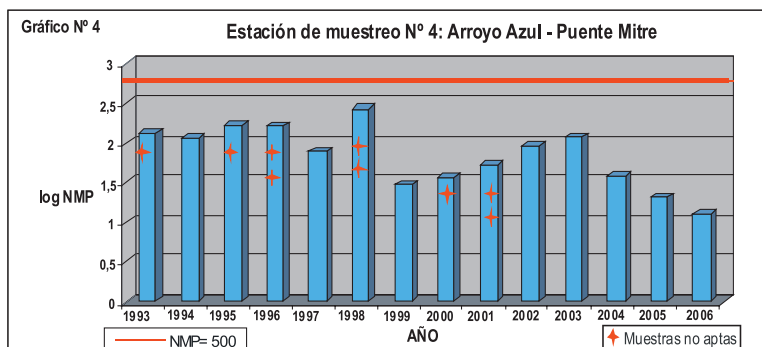
3-Parque Municipal – Es otra de las zonas utilizada masivamente para la recreación, en todo su recorrido la pesca se practica con asiduidad, se encuentra a 143 m. De altitud .Se monitoreó en 166 oportunidades, en 5 de las mismas fue considerado NO APTA (4%). El promedio fue de 124 NMP (Log.2) de *E.coli* fecal por cada 100 ml de agua (Grafico N°6). Puntos críticos para tener en cuenta: Drenajes pluviales peri –urbanos y urbanos-Instituciones deportivas, sociales y privadas con deficientes instalaciones sanitarias para el tratamiento de efluentes.

N° Muestra: 166
N° No aptas: 5
% No aptas: 4
Promedio N.M.P.: 124



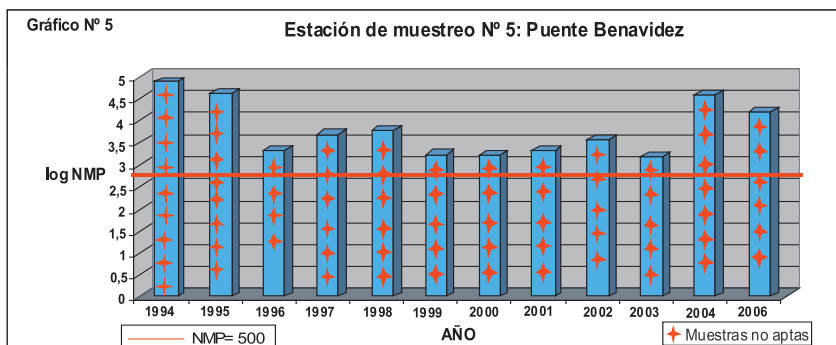
4- Av. Mitre y Costanera - Es una zona no habilitada como balneario, pero el público lo utiliza igual para dicho fin, se encuentra a 8.783 m del punto inicial de evaluación y a una altitud 135 mts del nivel del mar. Se procesaron 218 muestras y 9 de ellas (4%) fueron consideradas NO APTAS. El promedio registrado para dicho punto fue de 223 NMP (Log.2.3) de *E. Coli* fecal por cada 100 ml de agua (Grafico N°6). Los puntos críticos más notables son: Drenajes pluviales urbanos de las principales calles y avenidas de la ciudad-domicilios privados que drenan efluentes por los drenajes pluviales.

N° Muestra: 218
 N° No aptas: 9
 % No aptas: 4
 Promedio N.M.P.: 223



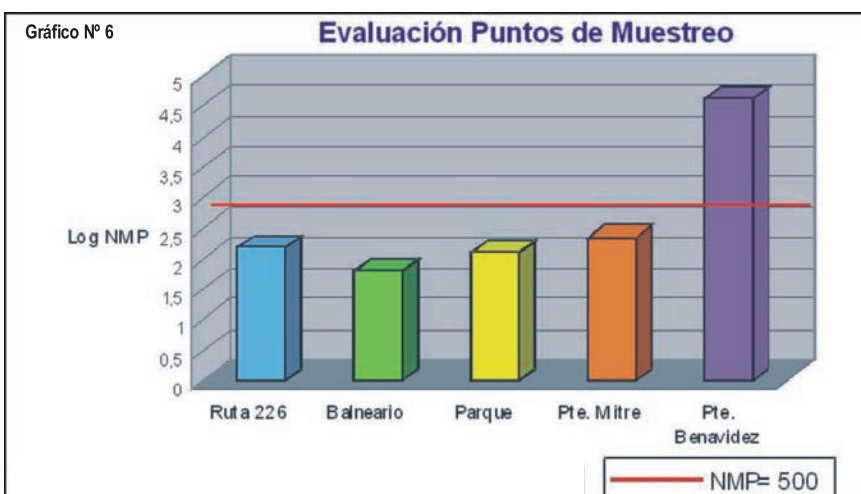
5-Puente Benavidez –Está ubicada al finalizar los 13.065 mts.de recorrido urbano del Arroyo Azul, a una altitud de 132 m. La salida de la Planta de tratamiento de Efluentes Cloacales se encuentra a escasos 256 m de este punto, arrojando al cauce del arroyo entre 14.000 a 16.000 metros cúbicos de efluentes tratados por día, con una eficacia del 81,4 % en los parámetros físicos, según lo informado por los operadores de la misma (18). El volumen de agua que pasa por este curso en temporada de bajo caudal es de 86.000 metros cúbicos por día. Se evaluaron 119 muestras ,103 de las cuales fueron calificadas como NO APTAS (86%). El promedio de *E.coli* fecal para este punto fue de 42.000 NMP (Log. 4.5) por cada 100 ml de agua(GráficoN°6). Los puntos críticos más notables son: efluentes industriales sin tratamiento-Efluentes cloacales con tratamientos insuficientes- Drenajes pluviales urbanos y peri-urbanos de un amplio sector de la ciudad- Domicilios privados que drenan efluentes cloacales por drenajes pluviales.

N° Muestra: 119
 N° No aptas: 103
 % No aptas: 86
 Promedio N.M.P.: 42.000



CONCLUSIONES

El transcurrir urbano del Arroyo Azul fue monitoreado bacteriológicamente en forma periódica durante un periodo de 13 años (1993-2006). El indicador bacteriano utilizado *E. coli* fecal, evaluada por la técnica de tubos de fermentación múltiples, relacionados a la cuantificación por la tabla de número más probable (N.M.P), demostró ser adecuado para tal fin. Las estaciones de muestreo 1-2-3-4-5 (GráficoNº6) muestran la media aritmética calculada sobre valores logaritmizados del N.M.P. de *E.coli* fecal, para su graficacion.Donde se demuestra que las estaciones de muestreo Nº:1-2-3-4 sus promedios están por debajo (Log.:2 / 1.6 / 2 / 2.3) de los 500 N.M.P. (Log 2.7) considerados como límite para su aceptación. Mientras que la Nº:5 Pte Benavidez superó ampliamente 42.000 N.M.P. (Log.4.5) del valor de aceptación.



Los 2.350 casos de diarreas humanas promedio anual denunciadas oficialmente durante los últimos 6 años, marcan un incremento promedio para el periodo 2004-07 de 881 casos anuales, evidenciando una tendencia de crecimiento para su consideración. Los enteropatógenos aislados y bibliográficamente referenciados, en los laboratorios de diagnóstico bacteriológico humano y veterinario (1-8-9-10-11-12-13-15), dan los elementos epidemiológicos necesarios para organizar un Alerta y Respuesta en el resguardo a la Salud Pública. El agua del Arroyo Azul debe ser monitoreada y sus posibles «Puntos Críticos» de contaminación vigiladas, en resguardo de esta vía de agua para la recreación de su población urbana. La comunicación semanal de los resultados por intermedio del periodismo gráfico (16), es una eficiente manera de crear conciencia ciudadana con responsabilidad social, de la población usuaria. Futuros programas de interés turístico, social o productivos, deberán utilizar este u otro indicador de contaminación para preservar el medio

ambiente y la salud pública humana o animal. La Planificación Estratégica de la ciudad deberá priorizar estudios de impacto ambiental, sobre la ubicación y características técnicas de eficiencia de la futura planta de efluentes cloacales. En futuros trabajos de salud pública se deberá analizar una correlación entre los niveles de contaminación de las aguas recreacionales y la incidencia de enfermedades entéricas en los usuarios de la misma. Se deberá reglamentar toda localización de encierro de animales para su cría, engorde o venta, cuyos efluentes puedan impactar negativamente sobre el agua recreacional del Arroyo Azul. Recordando a otro grande del pensamiento ético: Mahatma Gandhi, referido al tema dijo: «Hay suficiente agua en el mundo para saciar las necesidades de todos los hombres, pero no para la codicia de todos los hombres». Gracias por vuestra atención.

BIBLIOGRAFIA

1-Carniel E.; Mollaret H.H.-Centre National de Reference de Yersiniosis –Institut Pasteur –Paris, Francia. Información tecnica/comunicación personal –Biblioteca Laboratorio Azul. 1987-2000.

2-Díaz MC., Pardelhan I.M.-Análisis Estadístico de la Calidad Sanitaria del Arroyo Azul. Informe profesorado de matemática y cosmografía –I.E.S N°: 156-1998.

3-Folabella A.M.; Escalante A.H.; Deza A.; Perez Guzzi J.; Zamora A.-Indicadores bacterianos de calidad de agua recreacional en la laguna de los Padres –1º Congreso Internacional sobre Gestión y Tratamiento Integral del Agua, abril 2006-Córdoba, Argentina.

4-Gariboglio M.A.; Mariazzi A.A; Monticelli L.S.- Estudio bacteriologico de una zona del Rio de la Plata destinada a uso recreacional. *Limnobiós* (La Plata) 1:167-175,1977.

5-Gorbach S.L.; Kean B.H.; Evans D.G.; Besudo D. -Travellers diarrhea and Toxigenic *Escherichia coli* .*N Engl.J.Med.* N°: 292 1975.

6-Mallea E.; Noreiro G.A.; Davy J.P.; Antognoli J.O.; Qiroga A.B. –El Calvu leovu y la urbanizacion. Feria de las Ciencias –Escuela Normal Superior «Bernardino Rivadavia –Azul, Pcia de Buenos Aires, 1992.

7-Monticelli L.S.; Lasta J.A.; Gariboglio M.A.-Aislamiento y cuantificación de Salmonella en aguas del Rio de la Plata destinada a recreacion. *Revista Argentina de Microbiología* Vol. 16- N°: 1 -1984.

8-Noseda R.P. Bigalli MC.,Andrich MG,Cordeviola JM.,Bardon J.C.,Martines A.H.,Combessies G.M. Aislamientos de Salmonellas en muestras clínicas humanas, animales y alimentos durante 1988-2001. -*Veterinaria Argentina* Volumen XIX –N°190-diciembre 2002.

- 9-Nosedá R.P., Martínez A.H., Bardon J.C., Cordeviola JM –Salmonelosis Humana y Animal, Período 1983-1987. *Veterinaria Argentina*. Vol.VI N°: 54, Junio 1989
- 10-Nosedá R.P.; Combessies G.; Bardon J.C.; Cordeviola J.M.; Martínez A.H.; Portillo E.; Ezcurdia R. -Yersinia pseudotuberculosis serotipo III en bovinos de carne. *Veterinaria Argentina* Vol. XVI N°: 160 Diciembre 1999.
- 11-Nosedá R.P.-Monitoreo Microbiológico del agua recreacional. Seminario: El agua un bien común. Municipalidad de Azul –24 de agosto 2006.
- 12-Nosedá R.P.; Martínez A.H.; Bardon J.C.; Cordeviola J.M.; Massigoge A.; Hernaiz R.-Yersinia pseudo tuberculosis en bovinos de la Pcia de Bs.As. *Veterinaria Argentina*. Vol. VII N°: 66 Agosto 1990.
- 13-Nosedá. RP; Bardon J.C.; Martínez A.H.; Cordeviola J.M.-Yersinia Pseudotuberculosis: Epizootia en una colonia de Cavia Porcellus.*Veterinaria Argentina*.Vol.: IV, N° 32 abril 1987.
- 14-Orskov F.; Orskov I.; Escherichia and Klebsiella Center –Statens Serum Institut Copenhagen s.-Dinamarca. Información técnica/comunicación Personal –Biblioteca Laboratorio azul. 1978-1991.
- 15-Pichel M.; González Fraga S.; Terragno R.; Mulki J.; Gentile A.; Kremer C.; Mola A.M.; Nosedá R.; Binsztein N. –Estudio de relaciones clonales entre aislamientos de Shigella sonnei circulantes en la Argentina.-INEI-ANLIS –Carlos Malbrán – Congreso de Infecciones Emergentes. Atlanta USA -2004.
- 16-Periodismo gráfico: El País, 23 de enero 1993, Montevideo, Uruguay. El Tiempo, 15 de diciembre de 1995, Azul, Argentina. La Prensa, miércoles 13 de marzo 1996, Buenos Aires, Argentina. Jornal Do Brasil 14 de Diciembre 1998, Río de Janeiro, Brasil.
- 17-Wilson R.A.; Seebart K.; Richard W. –Escherichia coli Reference Center, the Pennsylvania State University. Información técnica/comunicación personal –Biblioteca Laboratorio Azul. 1992-1996.
- 18-Cooperativa Eléctrica de Azul Limitada –Memoria y Estados contables –Quincuagésimo primer ejercicio .Servicios Sanitarios .2006-2007.